

PENGARUH PEMBERIAN EKSTAK BUAH DELIMA (*Punica granatum* L.) TERHADAP GAMBARAN TUBULUS SEMINIFERUS MENCIT JANTAN (*Mus musculus* L.) YANG DIBERI PAPARAN ASAP ROKOK



**Disusun sebagai salah satu syarat menyelesaikan Program Studi Strata I
pada Jurusan Pendidikan Dokter Fakultas Kedokteran**

Oleh:

MARTIEKA NING TIAS

J 500 150 095

**PROGRAM STUDI PENDIDIKAN DOKTER
FAKULTAS KEDOKTERAN UMUM
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH SURAKARTA**

2019

HALAMAN PERSETUJUAN
PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK BUAH DELIMA (*Punica granatum* L.)
TERHADAP GAMBARAN TUBULUS SEMINIFERUS MENCIT JANTAN
(*Mus musculus* L.) YANG DIBERI PAPARAN ASAP ROKOK

PUBLIKASI ILMIAH

Oleh:

MARTI EKA NING TIAS

J 500 150 095

Telah diperiksa dan disetujui untuk diuji oleh :

Pembimbing

Utama



Riandini Aisyah, S.Si. M.Sc

NIK. 1011

HALAMAN PENGESAHAN

**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK BUAH DELIMA (*Punica granatum*
L.) TERHADAP GAMBARAN TUBULUS SEMINIFERUS MENCIT
JANTAN (*Mus musculus* L.) YANG DIBERI PAPARAN ASAP ROKOK**

OLEH:

MARTI EKA NING TIAS

J500150095

Telah dipertahankan di depan Dewan Penguji

Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Surakarta

Pada hari Kamis, 24 Januari 2019

dan dinyatakan telah memenuhi syarat.

Dewan Penguji :

1. dr. Nur Mahmudah, M.Sc
(Ketua Dewan Penguji)
2. dr. Safari Wahyu Jatmiko, M.Si. Med
(Anggota I Dewan Penguji)
3. Riandini Aisyah, S.Si. M.Sc
(Anggota II Dewan Penguji)

(.....)

(.....)

(.....)

Dekan



Prof. DR. dr. E.M. Sutrisna, M.Kes.

NIK. 919

PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa dalam naskah publikasi ini tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu perguruan tinggi dan sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan orang lain, kecuali secara tertulis diacu dalam naskah dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Apabila kelak terbukti ada ketidakbenaran dalam pernyataan saya di atas, maka akan saya pertanggungjawabkan sepenuhnya.

Surakarta, 24 Januari 2019

Penulis



MARTI EKA NING TIAS
J 500 150 095

**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK BUAH DELIMA (*Punica granatum*
L.) TERHADAP GAMBARAN TUBULUS SEMINIFERUS MENCIT
JANTAN (*Mus musculus* L.) YANG DIBERI PAPARAN ASAP ROKOK**

Abstrak

Asap rokok menjadi sumber radikal bebas dan menginduksi terbentuknya *Reactive Oxygen Species* sehingga menimbulkan stress oksidatif. Stress oksidatif dapat menyebabkan atrofi testis, atrofi tubulus seminiferus, terganggunya spermatogenesis di tubulus seminiferus yang akan menurunkan kualitas sperma, dan berakhir pada infertilitas. Buah delima memiliki kandungan polifenol dan flavonoid dengan aktivitas antioksidan dapat meredam stress oksidatif akibat radikal bebas dan menurunkan kerusakan jaringan di testis, sehingga mencegah atrofi tubulus seminiferus dan mencegah infertilitas. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efektivitas dan mengetahui dosis efektif ekstrak buah delima dalam mempengaruhi gambaran histopatologi tubulus seminiferus mencit jantan. Metode penelitian ini adalah eksperimental dengan metode *post test only controlled group design*. Subjek penelitian menggunakan 30 ekor mencit jantan galur *Swiss* yang dibagi secara acak menjadi 5 kelompok. Terdiri dari kelompok normal (diberikan pakan normal), kontrol negatif (diberikan 1 batang rokok), kelompok perlakuan yang diberikan 1 batang rokok dan ekstrak buah delima dengan dosis P1 350 mg/kgbb, P2 700 mg/kgbb, P3 1400 mg/kgbb. Perlakuan berlangsung selama 35hari, pada hari ke-36 mencit diterminasi, kemudian dilakukan pembuatan preparat, penilaian histologi gambaran tubulus seminiferus menggunakan *score jhonsen*. Hasil penelitian didapatkan data pengamatan tubulus seminiferus pada uji normalitas *Shapiro-wilk* didapatkan hasil nilai $p > 0.05$, sehingga dikatakan data berdistribusi normal. Dilakukan uji *Levene* dengan nilai 0,216 ($p > 0,05$) menunjukkan data memiliki varian yang homogen. Karena data normal dan homogen maka dilakukan analisis menggunakan *One way Anova*, didapatkan hasil bahwa nilai p sebesar 0.000. Selanjutnya, dilakukan uji *Post Hoc* menggunakan *LSD*. Didapatkan hasil kelompok kontrol negatif memberikan perbedaan bermakna terhadap kelompok kontrol normal, perlakuan 1,2 dan 3.

Sedangkan, antara kelompok perlakuan 1,2 dan 3 terdapat perbedaan yang tidak bermakna antar dosis. Kesimpulan yang didapat adalah ekstrak buah delima (*Punica granatum* L.) dapat mencegah kerusakan gambaran tubulus seminiferus mencit yang diberi paparan asap rokok dalam dosis 1400 mg, 700mg, dan 350 mg tanpa memberikan perbedaan yang bermakna antar dosis.

Kata kunci: Ekstrak buah delima (*Punica granatum* L.), mencit (*Mus musculus* L.), gambaran tubulus seminiferous, *score Jhonsen*

Abstract

Cigarette smoke is one of the biggest public health threats the toxic content of the source of free radicals and induce formation of *Reactive Oxygen Species* causing oxidative stress. Oxidative stress can cause testicular atrophy, atrophy of the seminiferous tubules, disruption of spermatogenesis in the seminiferous tubules which will reduce the quality of sperm, and an end to infertility. Pomegranate (*Punica granatum* L.) has polyphenols and flavonoids with antioxidant activity can reduce oxidative stress caused by free radicals and decrease in testicular tissue damage, thus preventing atrophy of the seminiferous tubules and prevent infertility. This study aims to determine the effectiveness and determine the effective dose of pomegranate extract in influencing seminiferous tubules histopatologi picture of male mice. The method used in this study is an experimental method controlled post-test only group design. Subject of the study using 30 male mice Swiss strain were divided randomly into 5 groups. Consisting of normal group (given feed normal), negative controls (given 1 cigarette), the treatment group were given one cigarette and ekstrak pomegranate with a dose of P1 350 mg/kg, P2 700 mg/kg, P3 1400 mg/kg. The treatment lasts for 35 days, on day 36 mice were terminated, and then be making preparations, then performed the histological assessment of the seminiferous tubules picture using jhonsen score. The results showed seminiferous tubules observational data normality test using with *Shapiro-Wilk* test showed the value of $p > 0.05$, so that said normal distribution of data. *Levene* test was done with a value of 0.216 ($p > 0.05$) indicates that the data has a homogeneous variant. Because the data is normal and homogeneous then analyzed using *One way ANOVA*, showed that the p value of 0.000. Furthermore, the use of *LSD Post Hoc* test. Negative control group results obtained provide a meaningful difference to the normal control group, the treatment 1,2 and 3. Meanwhile, between the treatment groups 1,2 and 3 there is a significant difference between the dose. The conclusion is the extract of pomegranate (*Punica granatum* L.).

Keywords: Extract of pomegranate (*Punica granatum* L.), mice (*Mus musculus* L.), an overview of the seminiferous tubules, *score Jhonsen*

1. PENDAHULUAN

Asap rokok merupakan salah satu ancaman kesehatan masyarakat terbesar yang pernah dihadapi dunia dan menewaskan lebih dari 7 juta orang pertahun. Lebih dari 6 juta kematian tersebut berasal dari perokok aktif, sementara sekitar 890.000 berasal dari perokok pasif (GYTS, 2017). Indonesia merupakan negara berkembang dengan jumlah perokok yang tinggi, hal tersebut menempatkan Indonesia di peringkat ke-3 dunia (Kemenkes, 2016). Saat ini diperkirakan sebanyak 30% penduduk Indonesia merupakan perokok, sedangkan berdasarkan jenis kelamin 60% pada pria dan 5 % pada wanita (GYTS, 2017).

Kandungan dalam asap rokok kurang lebih 100 senyawa yang bersifat toksik seperti bahan karsinogen, tar, nikotin, senyawa PAH (*Polynuclear Aromatic Hydrogen*) (Hargono, Lintong, & Kauripan, 2013). Senyawa kimia tersebut menjadi sumber radikal bebas dan menginduksi terbentuknya *Reactive Oxygen Species* (ROS), sehingga menimbulkan stress oksidatif (Abdullah, 2013). Stress oksidatif mengakibatkan terjadinya peroksidasi lipid membran sel, merusak membran sel dan akhirnya merusak sel. Stress oksidatif yang dicetuskan oleh kandungan PAH dari rokok menyebabkan atrofi testis, menghambat spermatogenesis dan merusak morfologi spermatozoa. Nikotin dalam rokok menghambat sel leydig dan menyebabkan penurunan kadar hormon testosterone (Kauripan *et al.*, 2014). Pada penelitian lainnya, asap rokok dapat menyebabkan atrofi tubulus seminiferus (Putra, 2014), dan terganggunya spermatogenesis di tubulus seminiferus yang akan menurunkan kualitas sperma, dan berakhir pada infertilitas (Ozan, 2017). Untuk menangani hal tersebut, maka jumlah ROS harus dikurangi dengan menaikkan kadar antioksidan dalam tubuh (Saryono, 2013). Saat ini, terdapat beragam jenis antioksidan, salah satunya adalah buah delima.

Buah delima (*Punica granatum* L) merupakan salah satu sumber antioksidan dari tumbuh-tumbuhan dengan kandungan polifenol dan antosianin yang cukup tinggi (Haloho, 2015). Polifenol pada buah delima terdiri dari flavonoids (flavonols, anthocyanins) (Hernawati *et al.*, 2013). Antosianin menjadi

salah satu antioksidan kuat yang mampu mencegah berbagai kerusakan akibat stress oksidatif sehingga mampu melindungi sel dari radikal bebas (Wardiyah, 2016). Stress oksidatif dapat dicegah dan dikurangi dengan asupan antioksidan yang dapat meredam dampak negatif radikal bebas antara lain dengan menghambat pembentukan radikal bebas sehingga menjadi stabil dan tidak berbahaya bagi sel tubuh (Denisov and Afanas'ev, 2005). Kandungan flavonoid dapat menekan stress oksidatif (Kauripan *et al*, 2014), memperbaiki peroksidase lipid, menurunkan kerusakan jaringan di testis, dan mencegah atrofi tubulus seminiferus (Turk, 2008). Aktivitas antioksidan buah delima meningkat di testis sehingga dapat mencegah kerusakan sel akibat stress oksidatif dan memperbaiki gambaran histologis tubulus seminiferus serta kualitas sperma mencit yang terpapar asap rokok (Wardiyah, 2016).

Berdasarkan latar belakang di atas, maka dilakukan penelitian dengan menggunakan hewan uji mencit jantan *Mus musculus* L untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak buah delima (*Punica granatum* L) terhadap gambaran histopatologi tubulus seminiferus mencit jantan (*Mus musculus* L) yang diberi paparan asap rokok.

2. METODE

Penelitian ini menggunakan desain penelitian eksperimental dengan *post test only with controlled group design*. Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Farmakologi dan Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Surakarta. Objek penelitian yang digunakan adalah mencit jantan (*Mus musculus* L.) sebanyak 30 ekor. Pengambilan sampel pada penelitian ini menggunakan teknik purposive sampling.

Cara kerja :

1) Pembuatan ekstrak buah delima (*Punica granatum* L.)

Metode ekstraksi yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode maserasi dengan jenis buah delima (*Punica granatum* L) yang berwarna merah. Ekstraksi etanol buah delima diawali dengan buah delima dicuci bersih, dan ditimbang sebanyak 3000 gram, memisahkan

antara kulit, dan buahnya. Selanjutnya, buah delima beserta bijinya diblender hingga halus kemudian dilarutkan dalam 1000 ml etanol 96%. Selanjutnya hasil campuran bahan tersebut diaduk selama 30 menit, lalu didiamkan selama 24 jam dan disaring. Proses pengadukan hingga penyaringan tersebut harus diulang sekali lagi hingga diperoleh filtrat. Filtrat yang dihasilkan terakhir tadi diuapkan dengan *Vacum Rotary Evaporator* pemanas waterbath pada suhu 60°C kemudian dituang ke cawan porselin dan didapatkan ekstrak dengan kondisi diaduk secara terus menerus pada saat pemanasan pada *waterbath*. Hasil dari pemanasan tersebut akan didapatkan ekstrak murni dengan kandungan 100% dan siap digunakan. Ekstrak murni dipindahkan dalam tabung penyimpanan dan disimpan dalam lemari pendingin agar terjaga kualitasnya.

2) Dosis ekstrak buah delima (*Punica granatum* L.)

Dosis acuan untuk tikus adalah 100 mg per tikus (Mansour, *et al.*, 2013). Faktor konversi dari tikus ke mencit adalah 0,14, maka dosis untuk mencit adalah (Widjaya, 2012; dan Mansour *et. al.*, 2013) maka penelitian ini menggunakan dosis 700 mg/kgbb.

3) Pelaksanaan penelitian

Mencit diadaptasi selama satu minggu dengan 5 pembagian kelompok yaitu kelompok kontrol (KN) adalah mencit kelompok kontrol normal yang tidak diberikan paparan asap rokok, maupun ekstrak buah delima dan hanya diberikan aquadest dan pakan. K(-) adalah mencit kelompok kontrol negatif yang diberikan paparana asap rokok, dan aquadest. Kelompok P (perlakuan) adalah kelompok perlakuan dengan pemberian paparan asap rokok, dan ekstrak etanol buah delima dengan dosis masing-masing P1 350 mg/kgbb, P2 700 mg/kgbb, P3 1400 mg/kgbb. Pemaparan asap rokok dilakukan menggunakan spuit injeksi yang ujungnya disambung dengan rokok kretek kemudian rokok dibakar, dan dimasukkan ke dalam kandang perlakuan sambil dipompa. Kandang mencit didesain khusus yaitu dengan *metabolic cage* yang ditutup mika

bening diatas kandang, kemudian memberikan satu celah kecil sebagai tempat pemberian asap rokok, dan lubang kedua lebih lebar sebagai ventilasi udara. Pemberian ekstrak delima diberikan secara peroral sesuai dosis yang ditentukan menggunakan sonde sebanyak 3 ml setiap mencit. Perlakuan diberikan satu kali per hari dan dilakukan dari hari ke-1 hingga hari ke-35.

4) Penilaian gambaran tubulus seminiferus

Mencit dikorbankan pada hari ke-36 dengan cara diberikan anestesi menggunakan *guillotine* selanjutnya di dislokasi *vertebraeservicalis* (Hamilton, 2012). Dari masing-masing mencit tiap kelompok perlakuan diambil satu testis kemudian dipilih tubulus seminiferus yang sesuai kriteria. Setelah terminasi, hewan uji dikubur didalam tanah dengan kedalaman 50-70cm. Masing-masing preparat diamati dalam 10 lapangan pandang yang berbeda secara acak dari kiri ke kanan. Kriteria yang digunakan untuk menilai tingkat kerusakan tubulus seminiferus adalah kriteria *score Johnsen* yang telah dimodifikasi berdasarkan perhitungan kuantitas dengan penilaian 1 – 10. Selanjutnya skor ini akan di kategorikan menjadi 4 kategori. Dimana skor 10,9,8 termasuk dalam kategori *Obstructive cases/normal* (kategori1); skor 7,6 termasuk dalam kategori *late maturity arrest* (kategori 2); skor 5,4,3 masuk dalam kategori *early maturity arrest* (kategori 3); dan skor 2,1 termasuk dalam kategori *absence of germ cell* (kategori 4).

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

3.1 Hasil Penelitian

3.1.1 Determinasi tanaman

Determinasi merupakan proses identifikasi tanaman dengan melihat ciri spesifik untuk menghindari terjadinya kesalahan dalam pemilihan tanaman sebagai subjek penelitian. Determinasi tanaman Buah Delima (*Punica granatum* L.) dilakukan di Laboratorium Biologi Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan (FKIP) Universitas Muhammadiyah Surakarta dengan nomor surat

104/A.E.I/LAB.BIO/XII/2018 dengan hasil 1b, 2b, 3b, 4b, 6b, 9b, 10b, 11b, 12b, 13b, 14b, 16a, 239b, 234b, 244b, 248b, 249b, 250a, 251b, 253b, 254b, 261a, 262b, 263b, 264a.

3.1.2 Randemen

Randemen ekstrak digunakan untuk membandingkan antara ekstrak dengan simplisia (buah delima merah) didapatkan dalam 1 gram buah delima segar mengandung 0,51 gr buah delima kering.

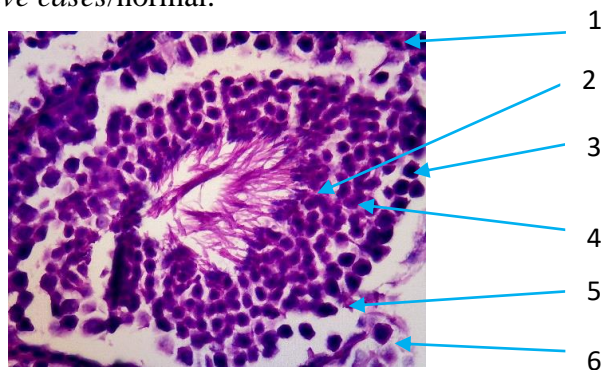
3.1.3 Hasil pemeriksaan gambaran tubulus seminiferus testis

Hasil makroskopis organ testis menunjukkan diameter testis kelompok kontrol normal menciit didapatkan rata-rata sebesar 0,54 cm³, kelompok kontrol negatif berdiameter 0,04 cm³, kelompok perlakuan 1 berdiameter 0,13 cm³, kelompok perlakuan 2 berdiameter 0,11 cm³, dan kelompok perlakuan 3 berdiameter 0,17 cm³.

Dari hasil pengamatan preparat histologi tubulus seminiferus pada 10 lapang yang berbeda melalui mikroskop. Penilaian tubulus seminiferus berdasarkan *score Jhonsen* dengan hasil pengamatan seperti dibawah ini:

a. Kelompok perlakuan kontrol normal

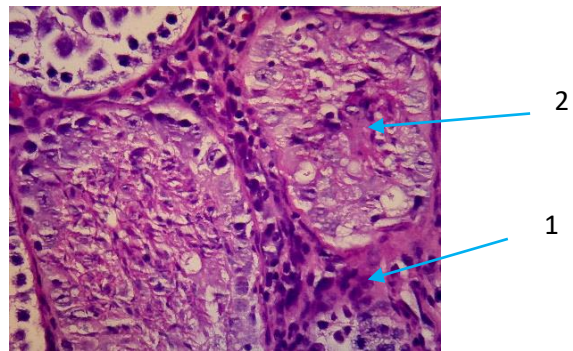
Hasil pengamatan mikroskopis kelompok perlakuan kontrol normal menciit satu memiliki rerata 9,6, menciit dua 10, menciit tiga 9,5, menciit empat 9,7 dan menciit lima 9,3. Dari rerata tersebut kelompok kontrol normal masuk kedalam kategori *obstructive cases/normal*.



Gambar 1. Foto preparat salah satu tubulus seminiferus mencit kontrol normal pembesaran 400x. Terdiri dari epitel tubulus normal (1), lumen tubulus terbuka (2), sel spermatozoa >10 (3), sel spermatid (4), sel spermatosit (5), sel spermatogonium(6).

b. Kelompok perlakuan kontrol negatif

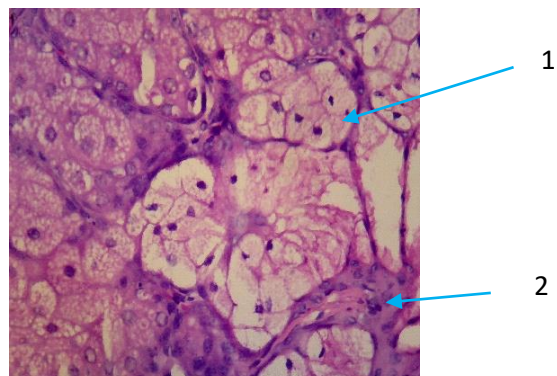
Dari hasil pengamatan mikroskopis kelompok perlakuan kontrol negatif mencit satu memiliki rerata 3,6, mencit dua 3,7, mencit tiga 4,2, mencit empat 3,4 dan mencit lima 4,3. Dari rerata tersebut kelompok kontrol negatif masuk kedalam kategori *early maturity*.



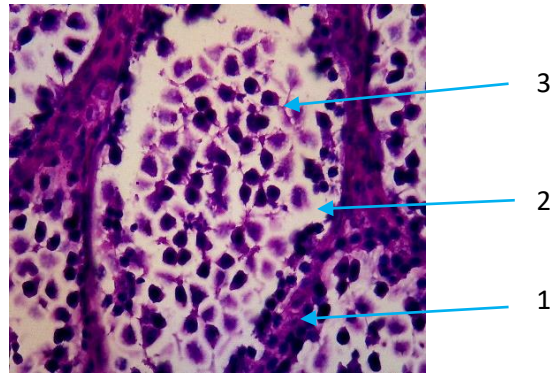
Gambar 2. Foto preparat salah satu tubulus seminiferus mencit kontrol negatif pembesaran 400x. Terdiri dari sel spermatogonium (1), dan adanya fibrosis (2).

c. Kelompok perlakuan perlakuan 1

Dari hasil pengamatan mikroskopis kelompok perlakuan 1 mencit satu memiliki rerata 6,3 dengan kategori *early maturity arrest*, mencit dua 9,6, mencit tiga 9,5, mencit empat 9,2 dan mencit lima 9,0. Dari rerata mencit nomor 2,3,dan 4 termasuk kedalam kategori *obstructive cases/normal*.



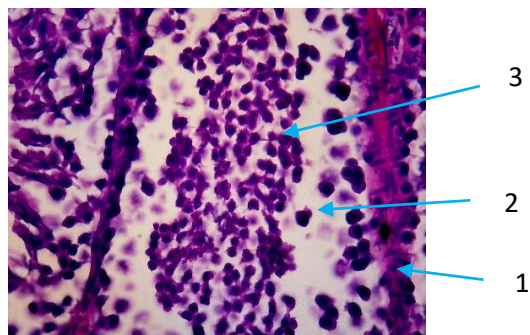
Gambar 3. Foto preparat salah satu tubulus seminiferus mencit perlakuan 1 pembesaran 400x. Terdiri dari lumen tubulus tertutup (1) , sel spermatid (2).



Gambar 4. Foto preparat salah satu tubulus seminiferus mencit perlakuan 1 pembesaran 400x. Terdiri dari epitel tubulus rusak (1) , lumen tubulus terbuka (2), sel spermatozoa (3).

d. Kelompok perlakuan perlakuan 2

Dari hasil pengamatan mikroskopis kelompok perlakuan 2 mencit satu memiliki rerata 9,5, mencit dua 9,2 , mencit tiga 9,2, mencit empat 9,6 dan mencit lima 8,7. Dari rerata mencit perlakuan 2 termasuk kedalam kategori *obstructive cases/normal*.

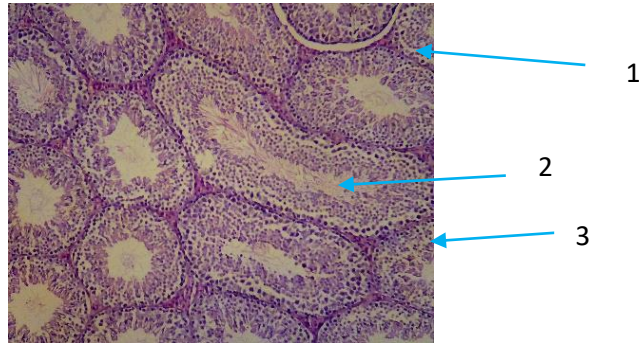


Gambar 5. Foto preparat salah satu tubulus seminiferus mencit perlakuan 2 pembesaran 400x. Terdiri dari epitel tubulus rusak (1), lumen terbuka (2), spermatozoa (3) .

e. Kelompok perlakuan perlakuan 3

Dari hasil pengamatan mikroskopis kelompok perlakuan 3 mencit satu memiliki rerata 8,8, mencit dua 7,2, mencit tiga 8,9, mencit empat 9,1 dan mencit lima 9,8. Dari rerata mencit

perlakuan 3 termasuk kedalam kategori *obstructive cases/normal*.



Gambar 6. Foto preparat tubulus seminiferus mencit perlakuan 3 pembesaran 400x. Terdiri dari lumen tubulus tertutup (1), epitel tubulus normal (2), sel spermatozoa (3).

3.1.4 Analisis Data

a. Uji Normalitas Data

Dari hasil pengujian normalitas dengan menggunakan Uji *Shapiro-wilk*, didapatkan hasil nilai p pada gambaran tubulus seminiferus mencit adalah $p > 0.05$ sehingga dapat dikatakan bahwa data berdistribusi normal.

b. Uji Homogenitas Data

Dari hasil pengujian homogenitas dengan menggunakan uji *Levene*, didapatkan gambaran tubulus seminiferus mencit nilai 0,216 ($p > 0,05$) yang menunjukkan bahwa data memiliki varian yang homogen.

c. Uji Statistik

Dari penilaian distribusi data untuk gambaran tubulus seminiferus didapatkan hasil bahwa data bersifat normal dan dari homogen. Maka dapat dilanjutkan pengujian statistik dengan menggunakan *One way Anova*, didapatkan hasil bahwa nilai $p = 0.000$. Oleh karena nilai $p < 0.05$, maka dapat diartikan bahwa terdapat perbedaan gambaran tubulus seminiferus yang signifikan antar kelompok.

d. Uji *Post Hoc*

Uji *Post Hoc* bertujuan untuk mengetahui kelompok mana yang mempunyai perbedaan. Dalam penelitian ini menggunakan uji *Pos Hoc LSD*, dengan hasil sebagai berikut :

Tabel 1. Uji *LSD* pada gambaran tubulus seminiferus

Uji- <i>LSD</i>	Nilai p	Keterangan
Kontrol Normal – Kontrol Negatif	,000 *	Berbeda bermakna
Kontrol Normal – P1	,047 *	Berbeda bermakna
Kontrol Normal – P2	,302	Berbeda tidak bermakna
Kontrol Normal – P3	,017 *	Berbeda tidak bermakna
Kontrol Negatif – P1	,000 *	Berbeda bermakna
Kontrol Negatif – P2	,000*	Berbeda bermakna
Kontrol Negatif – P3	,000 *	Berbeda bermakna
P1– P2	,302	Berbeda tidak bermakna
P1– P3	,643	Berbeda tidak bermakna
P2 –P3	,141	Berbeda tidak bermakna

3.2 Pembahasan

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak buah delima (*Punica granatum* L.) terhadap gambaran tubulus seminiferus. Dari hasil pengamatan makroskopis dapat diketahui bahwa pemberian paparan asap rokok selama 35 hari menunjukkan aktivitas atrofi testis dan kerusakan tubulus seminiferus lebih besar pada kelompok negatif dibandingkan dengan kelompok normal dan kelompok perlakuan lainnya, tetapi terjadi perbaikan baik secara makroskopis maupun mikroskopis tubulus seminiferus testis pada kelompok perlakuan 1, perlakuan 2, dan perlakuan 3.

Sedangkan, dari hasil pengamatan histopatologi tubulus seminiferus menunjukkan bahwa kelompok kontrol normal menciit yaitu kelompok yang

hanya diberikan pakan normal didapatkan termasuk kedalam kategori *obstructive cases*/normal yang terdiri dari epitel tubulus normal, sel spermatogenesis lengkap, lumen tubulus terbuka, dan sel spermatozoa. Sedangkan pada kontrol negatif yaitu mencit dengan perlakuan pemberian asap rokok 1 batang perhari didapatkan hasil pengamatan mikroskopis *early maturity arrest* yang terdiri dari sel spermatosit, sel spermatogonium dan adanya fibrosis. Pada perlakuan satu mencit dengan pemberian asap rokok 1 batang perhari dan ekstrak buah delima dengan dosis 350 mg/kgbb/oral didapatkan hasil *obstructive cases*/normal dengan adanya epitel tubulus yang mulai rusak, lumen tubulus tertutup, dan sel spermatozoa <10, kecuali pada mencit perlakuan 1 mencit nomor satu didapatkan hasil *late maturity arrest* dengan sel spermatid <10 dan lumen tubulus tertutup. Sedangkan pada perlakuan 2 dengan pemberian asap rokok 1 batang per hari dan ekstrak buah delima dengan dosis 700mg/kgbb/oral didapatkan hasil *obstructive cases*/normal dengan adanya epitel tubulus rusak, sel spermatozoa >10. Perlakuan 3 mencit dengan pemberian asap rokok 1 batang per hari dan ekstrak buah delima dengan dosis 1400mg/kgbb/oral didapatkan hasil pada mencit nomor satu *obstructive cases*/normal dengan sel spermatozoa <10, dan mencit nomor 2 *late maturity arrest* dengan hanya terdiri dari sel spermatid, dan mencit yang lain *obstructive cases*/normal dengan epitel tubulus rusak, lumen tubulus tertutup dan spermatozoa >10. Data menunjukkan adanya perbaikan oleh flavonoid yang terdapat pada ekstrak buah delima terhadap tubulus seminiferus mencit yang sebelumnya telah diberikan paparan asap rokok.

Data hasil pengamatan tubulus seminiferus dilakukan uji normalitas menggunakan uji *Shapiro-wilk* karena jumlah sampel kurang dari 50, hasil nilai p pada gambaran tubulus seminiferus mencit adalah $p > 0.05$ sehingga dapat dikatakan bahwa data berdistribusi normal. Selanjutnya dilakukan pengujian homogenitas dengan menggunakan uji *Levene*, didapatkan gambaran tubulus seminiferus mencit nilai 0,216 ($p > 0,05$) yang menunjukkan bahwa data memiliki varian yang homogen. Karena data normal dan homogen selanjutnya dilakukan analisis menggunakan *One way Anova*, didapatkan hasil bahwa nilai p sebesar 0.000. Oleh karena nilai $p < 0.05$, berarti terdapat perbedaan gambaran tubulus

seminiferus yang signifikan antar kelompok. Untuk mengetahui antar kelompok mana yang mempunyai perbedaan maka dilakukan uji *Post Hoc* menggunakan *LSD* dengan hasil uji beda antara kontrol normal dengan kontrol negatif memperlihatkan hasil $p=0,000$, secara statistik terdapat perbedaan bermakna antara dua kelompok tersebut. Adapun kelompok yang memberikan perbedaan bermakna lainnya, yaitu kontrol negatif dengan perlakuan 1, kontrol negatif dengan perlakuan 2, kontrol negatif dengan perlakuan 3. Pada kelompok kontrol normal dengan perlakuan 1 dan perlakuan 3 juga terdapat perbedaan bermakna. Sedangkan, antara kelompok perlakuan 1,2 dan 3 tidak terdapat perbedaan yang bermakna antar dosis.

Asap rokok menjadi sumber radikal bebas yang dapat menyebabkan stress oksidatif meningkat di dalam tubuh sehingga menyebabkan atrofi testis, merusak tubulus seminiferus, dan mengganggu aktivitas organ reproduksi dalam memproduksi sperma (Ozan, 2014). Dalam penelitian Kauripan *et al*, (2014) kandungan nikotin dan PAH dalam asap rokok mempengaruhi kerja sistem saraf pusat dengan cara menghambat kerja GnRH sehingga rangsangan terhadap testis berkurang dan menyebabkan testis atrofi serta pembentukan FSH (*Follicle Stimulating Hormone*) dan LH (*Luteinizing Hormone*) terhambat. Terhambatnya pembentukan FSH dan LH menyebabkan proses spermatogenesis berlangsung tidak normal.

Buah delima merupakan tanaman dengan kandungan flavonoid sebesar 75% dalam dosis 4.897 mg/ml (Nge, 2016). Flavonoid ini sebagai sumber antioksidan mampu mencegah berbagai kerusakan sel akibat stress oksidatif sehingga mampu melindungi sel dari radikal bebas mencegah peroksidase lipid, menurunkan kerusakan jaringan di testis, dan mencegah atrofi tubulus seminiferus (Turk, 2008). Aktivitas antioksidan buah delima meningkat di testis sehingga dapat mencegah kerusakan sel akibat stress oksidatif dan memperbaiki gambaran histopatologi tubulus seminiferus serta kualitas sperma mencit yang terpapar asap rokok (Wardiyah, 2016).

Penelitian ini sejalan dengan penelitian Kauripan *et al*, (2014) yang menunjukkan hasil berupa flavonoid dapat mencegah kerusakan gambaran tubulus

seminiferus mencit yang diberi paparan asap rokok. Namun, terdapat perbedaan dalam penelitian ini yang diduga akibat penggunaan etanol 96% sebagai pelarut dalam pembuatan ekstrak buah delima diduga memberikan kadar flavonoid yang berbeda dengan penelitian sebelumnya, sehingga didapatkan hasil dari dosis perlakuan 1,2 dan 3 memiliki efek untuk mencegah kerusakan gambaran tubulus seminiferus.

4. PENUTUP

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa ekstrak buah delima (*Punica granatum* L.) memberi pengaruh dalam mencegah kerusakan gambaran tubulus seminiferus mencit (*Mus musculus* L.) yang diberi paparan asap rokok tanpa memberikan perbedaan yang bermakna dalam dosis ekstrak buah delima P1 1400mg, P2 700 mg, dan P3 350mg .

PERSANTUNAN

Pada kesempatan ini penulis menyampaikan rasa terimakasih yang tulus kepada Prof. Dr. dr. EM Sutrisna, M. Kes. selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Surakarta, dr. Erika Diana Risanti, M.Sc. selaku Kepala Biro Skripsi Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Surakarta, Riandini Aisyah, S.Si., M.Sc selaku Dosen Pembimbing yang telah memberikan pengarahan, saran, serta dukungan yang berarti kepada penulis hingga akhir penulisan skripsi ini. dr. Nur Mahmudah, M.Sc dan dr. Safari Wahyu Jatmiko, M.Si.Med selaku Dosen Penguji 1 dan Dosen penguji 2, yang telah membimbing, memberikan saran dan kritik dalam penelitian ini. Segenap dosen dan staff Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Surakarta, Keluarga tercinta, sahabat, dan semua pihak yang telah membantu dalam penyusunan skripsi ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Akbar B. 2010. Tumbuhan Dengan Kandungan Senyawa Aktif Berpotensi Sebagai Bahan Antifertilitas. Jakarta : Adabia Press. Pp 6-7
- Apriora, V. D., Amir, A. & Khairisyaf, O., 2015. Gambaran Morfologi Spermatozoa pada Perokok Sedang di Lingkungan PE Group yang Datang ke Bagian Biologi Fakultas Kedokteran Universitas Andalas. Jurnal Kesehatan Andalas, 4(2), pp.425-429.

- Ariantri N.P., Astuti K.W., Susanti N.M.P., Arisanti C.I.S. 2006. Buku Ajar Farmasetika. Jurusan Farmasi Universitas Udayana: Jimbaran. Pp 115
- Batubara, I. V. D., Wantou, B. & Lydia, T., 2013. Pengaruh Paparan Asap Rokok Kretek Terhadap Kualitas Spermatozoa Mencit Jantan (*Mus musculus*). Jurnal e-Biomedik (eBM), 1(1), pp. 330-337.
- Budka, D., 2013. Active Ingredients, Their Bioavailability and The Health Benefits Of The *Punica Granatum* Linn (Pomegranate). Review Article. Bangalore: MSML c/o Hale Clinic MSML Research Unit. Conn, P. M., 2013. Animal Models For The Study of Human Disease. 2nd Edition ed. Sandiego: Elsevier Inc.
- Dai, Y., Jiao, H., Teng, G., Wang, W., Zhang, R., Wang, Y., Hebbard, L., George, J., Qiao, L. 2015. Embelin Reduces Colitis-Associated Tumorigenesis through limiting IL-6. Molecular Cancer Therapeutics.
- Fawles J, Bates M. 2000. The Chemical Constituents in Cigarettes and Cigarette smoke : Priorities For Harm Reduction. Epidemiology and Toxicology group. ESR ; Kenepuru Science Centre. New Zealand.
- Fidan, A.F., Enginar H, Cigerci IH, Korcan SE, Ozdemir A. 2008. The radioprotective potential of spinacia elaracia and aesculus hippocastanum against ionizing radiation with their antioxidant and antimicrobial properties. Journal of animal and variternary advances 7; 1582-1536.
- Galley, H. F., 2010. Mice, Men, and Medicine. British Journal of Anaesthesia, 105(4), pp. 396-400.
- Geiss, O dan Kotzias, D. 2007. Tobacco, Cigarettes, and Cigarette Smoke. Institute for Health and Consumer Protection. Italy: European Commission.
- GYTS. 2015. Global Youth Tobacco Survey (GYTS) Indonesia Report 2014. New Delhi: WHO.
- Haloho, A.C., 2015. Pengaruh Pemberian Jus Buah Delima (*Punica Granatum* L.) Terhadap Kualitas Sperma Pada Mencit Yang Telah Diinduksi Ekstrak Daun Tembakau. Skripsi. Medan: Universitas Sumatra Utara Universitas Sumatra Utara.
- Hamilton, J. W., 2012. Pengaruh Pemberian Ekstrak Dimer Isougenol Secara Oral Terhadap Kualitas Spermatozoa Mencit (*Mus musculus* L.) Jantan Galur DDY. Depok: Universitas Indonesia.
- Hargono, F. R., Lintong, P. M. & Kauripan, C. F., 2013. Gambaran Histopatologi Testis Handa S.S., Khanuha S.P.S., Longo G., Rakhes D.D. 2008. Extraction Technologies for Medical and Aromatic Plants. ICS UNIDO. Trieste. pp. 21-22 Mencit Swiss (*Mus musculus*) yang Diberi

- Kedelai (*Glycine max*) dan Paparan dengan Asap Rokok. Jurnal e-Biomedik (eBM), 1(2), pp. 824-829.
- Hedrich, H. J., 2017. The Laboratory Mouse. 2nd Edition ed. San Diego: Elsevier Ltd.
- Intani, Yuniar. 2010. Pengaruh Pemberian Ekstrak Jahe Merah Terhadap Gambaran Mikroskopis Testis dan Kadar Timbal (Pb) Dalam Darah Mencit BALB/Jantan. Universitas Diponegara. Semarang.
- Johnsen SG. 1970. Testicular biopsy score count--a method for registration of spermatogenesis in human testes: normal values and results in 335 hypogonadal males. Hormones. 1(1): 2-25.
- Jaydio, J. 2011. Smoking and Its II Effects. CEDARS.
- Junqueira, Luiz Carlos dan Jose Carneiro. 2007. Histologi Dasar; Teks dan Atlas-Edisi 10. Jakarta: EGC.
- Mansour, S. W. et al., 2013. Sensibility of male Rats Fertility Against Olive Oil, *Nigella Sativa* Oil and Pomegranate Extract. Asian Pasific Journal of Tropical Biomedicine, 3(7), pp. 563-568.
- Mardjun, Y. 2012. Perbandingan Tulang Alveolar Antara Perokok dan Bukan Perokok. Universitas Hasannudin. Makasar.
- Maslachah L, Sukmanadi M, dan Sugihartuti R. 2004. Pengaruh pemberian antisterilitas Alpha tocopherol terhadap spermatogenesis tikus yang menerima stressor. Jurnal Penelitian Medika Eksata. 5; 258-269.
- Mescher, A.L. 2011. Histologi Dasar Janquira, Teks dan Atlas, Edisi 12. EGC.Jakarta
- Moneim Abdel, A. Abou Gabal AA, Essawy AE, Hamed SS, Elzergy A. 2013. The Protective Effect of Black Seed (*Nigella saliva*) Against Carbon tetrachloride-Induced Chromosomal Aberations and Ultrastructural Changes of Bone Marrow Cells. Arab J Biotechnol.
- Moore D. 2000. Laboratoty Animal Medicine and Science II. University of Washington Health Science Centre. Washington. Pp 1-23.
- Nge Sonya, T. 2016. Kadar dan Identifikasi Senyawa Polifenol Pada Wine Terbuat dari Campuran Buah Ekstrak Delima dan Pisang. Tesis. Program Studi Magister Biologi. Universitas Kristen Satya Wacana. Salatiga.
- Putra, Y., 2014. Pengaruh Rokok Terhadap Jumlah Sel Spermatozoa Mencit Jantan (*Mus musculus*, *Strain Jepang*). Jurnal Sainstek, VI(1), pp.30-42.
- Rossidy, I., 2008. Rahasia Tumbuhan Obat Perspektif Islam. 1st ed. Malang: UIN-Maliki press.

- Saleh. Ramadan A., Ashok Aqarwal., Rakesh K Sharma, David R Nelson, & Anthony J Thomas. 2001. Effect of Cigarette smoking on levels of seminal oxidative stress in infertile men; a prospective study. Present at the 57th Annual Meeting of the American Society for Reproductive Medicine. Orlando, Florida.
- Setyawan, M. E. A. et al., 2017. The Effect of Kalimantan's Honey Propolis Toward the Quality of Mice's (*Mus musculus* L.) Spermatozoa that Exposed Cigarette Smoke. *Asian Journal of Biochemical and Pharmaceutical Research*, 7(2), pp. 70-75.
- Sudidjo, 2014. Sekilas Tanaman Delima dan Manfaatnya. *Iptek Hortikultura*, pp. 40-43.
- Saryono, Retnan, i.H. & Santoso, D., 2015. Seduhan Biji Kurma (*Phoenix Dactylifera*) Memperkuat Membran Sel Sperma. *Jurnal Ners*, X(2), pp.355-59.
- Sugianto, N.L., 2011. Pemberian Jus Delima Merah (*Punica granatum* L.) Dapat Meningkatkan Kadar Glutation Peroksidase Darah Pada Mencit (*Mus musculus*) Dengan Aktivitas Fisik Maksimal. Thesis. Denpasar: Universitas Udayana Universitas Udayana.
- Tanagho, Emil A., Jack. & W. McAnich. 2008. *Smith's General Urology*. New York. The Mc. Graw-Hill Companies.
- Turk, Gaffari. 2008. Effects Of Pomegranat Juice Consumption On Sperm Quality, Spermatogenic Cell Density, Antioxidant Activity and Testoteron Level In Male Rats. *Clinical Nutrition*. 27: 289-296.
- Widjaya, A. R., 2012. Uji Antifertilitas Ekstrak Etanol 70% Biji Delima (*Punica granatum* L.) pada Tikus Jantan Strain Sparague-Dawley Secara In Vivo. Jakarta: UIN Syarif Hidayatullah Jakarta.
- Wardiyah. 2016. *Kimia Organik*. Pusat Pendidikan Sumber Daya Manusia Kesehatan. Departemen Kesehatan RI.
- Wein, Kavoussi., Novick., Partin dan Peters. 2012. *Compbell-wash urology*. Tenedition. United States of Amerrica. Elsevier Sauders.
- Yuwono S.S., E. Sulaksono, dan R. P. Yekti. 2006. Keadaan Nilai Normal Baku Mencit Strain CBR Swiss Derived di Pusat Penelitian Penyakit Menular. <http://www.kalbefarma.com/filesedk/15keadaannilainormal92.pdf/150keadanilainormal/92.html>
- Zhang, Y. 2009. International Multidimensional Authenticity Specification (IMAS) Algorithm for Detection of Commercial Pomegranate Juice Adulteration. *Journal of Agriculturan and Food Chemistry*, 57(6), pp. 2550-2557.